

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Prof. Dr. H. Hamelmann

Fibrin als Antibiotikabarriere bei chronischer posttraumatischer Osteomyelitis

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der
Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Axel Sauer

aus Witzenhausen

Marburg/Lahn 1973

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg

Direktor: Prof. Dr. H. Hamelmann

Fibrin als Antibiotikabarriere bei chronischer posttraumatischer Osteomyelitis

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin

der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Axel Sauer

aus Witzenhausen

Marburg/Lahn 1973

Fotodruck: Erich Mauersberger, Marburg



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am 21. 8. 1973

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr.med. H. Oepen

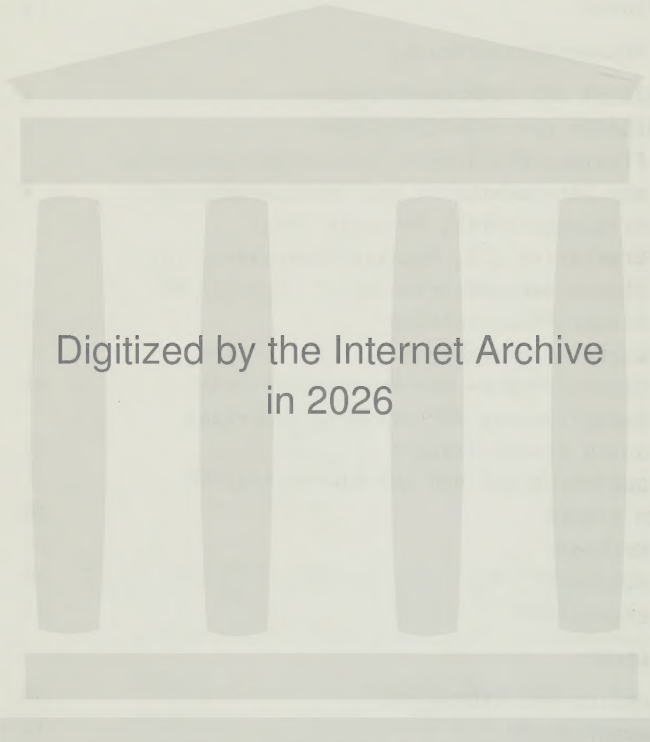
Referent: Priv.Do. Dr.med. H. Koch

Correferent: Prof. Dr.med. K. Müller

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
a) Heilungschancen bei exogener Osteomyelitis	1
b) Fibrin und Fremdkörper im Organismus	2
c) Beeinflussung der Antibiotikawirkung durch Fibrin	2
2. 3. 4. Versuchsdurchführung	
2. ÜBERSICHT DES VERSUCHSVERLAUFES	3
3. GRUNDLAGEN DER VERSUCHSFÜHRUNG	4
3.1 Fluoreszenzmikroskopischer Fibrinnachweis auf Osteosynthese- und Versuchsmaterial	4
Problematik (4), Methodik (5), Ergebnisse (7), Spezifitätsnachweis (9)	
3.2 Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis der Streptokinasewirkung	12
3.3 Bakterienvermehrung auf infiziertem Osteosynthese- und Versuchsmaterial	14
3.4 Beeinflussung der Antibiotikawirkung durch Streptokinase?	15
4. DIE BEEINFLUSSUNG DER ANTIBIOTIKAWIRKUNG DURCH FIBRIN	16
4.1 Methodik	16
4.2 Material	20
4.3 Ergebnisse	23
5. 6. Schluß	
5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	30
6. ZUSAMMENFASSUNG	32
7. 8. 9. 10. 11. Anhang	
7. ZITATE	35
8. LITERATURVERZEICHNIS	37
9. MATERIAL UND REAGENZIEN	40
0. PATIENTEN	43
1. PIPETTIERSCHEMA	44

(Die experimentelle Arbeit wurde im Juli 1972 beendet)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1 a) Heilungschancen bei exogener Osteomyelitis

Durch die Zunahme operativer moderner Osteosynthesen, die Endoprothetik, sowie durch die verkehrsbedingte Häufigkeitszunahme offener Frakturen, hat die exogene Form der pyogenen Knocheninfektion die klassische, hämatogen bedingte Osteomyelitis an Bedeutung übertroffen (1). Im Gegensatz zur hämatogenen Form entwickelt sich die posttraumatische Osteomyelitis in der Regel eher schleichend. Da sich die spezifischen Merkmale dieser Entzündung unter dem gewohnten Bild einer postoperativen Wundinfektion verbergen können, ist die Früherkennung schwierig. Sie ist aber für eine wirkungsvolle Therapie äußerst wichtig (2). Diese besteht in intensiver gezielter Antibiotika-Therapie, Eröffnung und Ruhigstellung des Herdes und - nach WILLENEGGER - der Einrichtung einer speziellen Spüldrainage (3). Unter diesen Umständen ließen sich infizierte Osteosynthesen "fast immer zu einem guten Ende führen" (4). Die Heilungschancen sind aber wesentlich verschlechtert bei Späterkennung, oder bei schon bestehender chronischer Verlaufsform (5). Eigene Beobachtungen an der hiesigen Klinik zeigten, daß sich im späteren Stadium der Entzündungsverlauf einer posttraumatischen Osteomyelitis schwer beeinflussen läßt, trotz Ruhigstellung und Eröffnung des Herdes, und trotz hoher, auf die Erreger wirksamer Antibiotikadosen, die intravenös, als Markspülung oder als Eigenblut-Antibiotika-Plombe (6) appliziert werden können. Dagegen sind die Heilungschancen deutlich verbessert nach der Entfernung des infizierten Osteosynthesematerials und alles nekrotischen Gewebes. Die Antibiotikawirkung scheint in

diesem Fall besser an die Infektionsherde heranzukommen. Man kann versuchen, dieses Phänomen mit der Annahme zu erklären, daß die Entfernung des Metalls die trophische Versorgung des Knochens verbessert und damit die Wirkung des Antibiotikums optimiert wird. Zusammen mit der Metallentfernung entfallen Spurenelemente und elektrolytische Prozesse, die zusätzlich den Infektionsabwehrmechanismus beeinträchtigen können (7) (Metallose? Einschränkung der Leukozyten-Chemotaxis?) Diese Fragen müßten noch näher untersucht werden.

1 b) Fibrin und Fremdkörper im Organismus

Das Phänomen des rascheren Abklingens einer posttraumatischen Osteomyelitis nach Metallentfernung kann aber auch mit der Funktion des Fibrins im Organismus zusammenhängen. Metallisches Osteosynthesematerial wird, wie fast alle Fremdkörper im Organismus, mit Fibrin umschlossen (8). ZOLLINGER beschreibt, daß der Organismus sich durch Bildung einer "Fibrinbarriere", vor der Ausbreitung von Schädlichkeiten schützen kann (9). Injiziertes Evansblue konzentriert sich in diesem Fibrin (10). Man erkennt diese Funktion mikroskopisch auch bei einer Eisenfärbung metallurgischer Prozesse um Osteosynthesematerial (11). Die feingeweblichen Veränderungen einer bakteriell infizierten Osteosynthese gleichen diesen reaktiven Prozessen.

1 c) Beeinflussung der Antibiotikawirkung durch Fibrin?

Wenn diese Fibrinhülle in der Lage ist, schädigende Stoffe aus dem Organismus abzukapseln, dann müßte es möglich sein, daß sie bakterizid wirkende Substanzen ebenfalls daran hindert, die Keimquelle der Infektion

zu erreichen. Dies ist die Hypothese, die in dieser Arbeit untersucht werden soll: Das infizierte Metall wird von einer Fibrinschicht unmittelbar umschlossen. Da das Metall primär infiziert war, liegen die Bakterien in oder unter dieser Hülle. Die Fibrinschicht bildet eine Barriere, die das Antibiotikum nicht zu durchdringen vermag, um die dahinterliegenden Entzündungserreger zu beeinflussen. Dieses Gedankenmodell wird von zwei Beobachtungen gestützt: Bei Lungenabszessen wurden therapeutische Erfolge mit Streptokinase, einem Fibrinolytikum, erzielt (12). Auch hier befindet sich um den Erregungsherd, dem Abszeß, eine Fibrinmembran (13). Dauerausscheider von Typhusbakterien sind fast immer Gallensteinträger (14). Auch hier könnten die Bakterien durch Fibrin von dem Antibiotikum getrennt sein. - In meiner Arbeit beschränke ich mich auf die Untersuchung der Fibrinschicht, die unmittelbar auf dem Material haftet.

2. ÜBERSICHT DES VERSUCHSVERLAUFES

Um diese Hypothese zu untersuchen, wird Osteosynthesematerial durch eine Fistel in einen Osteomyelitisherd gebracht. Dort wird es infiziert und anschließend mit einer Fibrinhülle umgeben. Das Eintreten beider Vorgänge muß nachgewiesen werden. Danach wird ein Teil des Materials mit einem Fibrinolytikum behandelt und gezeigt, daß sich das Fibrin gelöst hat, während die Bakterien unbeeinflußt blieben. Dann ist die Antibiotikahemmkonzentration des Osteosynthesematerials mit und ohne Fibrinschicht festzustellen und miteinander zu vergleichen. Hemmt das Fibrin in irgendeiner Weise die Antibiotikawirkung, so muß das Bakterienwachstum

auf dem mit Fibrinolytikum behandelten Osteosynthesematerial bei geringeren Antibiotikakonzentrationen gehemmt werden, als bei fibrinbeschichtetem Metall.

3. GRUNDLAGEN DER VERSUCHSFÜHRUNG

3.1 Fluoreszenzmikroskopischer Fibrinnachweis auf Osteosynthese- und Versuchsmaterial

a) Problematik :

Die Hypothese dieser Arbeit lautet, daß Fibrin die Wirkung von Antibiotika behindert. Voraussetzung ist also, daß sich Fibrin auf dem Osteosynthesematerial sowie auf dem Versuchsmaterial befindet. Als Versuchsmaterial dienen kleine Häkchen aus Cerclagedraht(M). Man benutzt einen Osteomyelitisherd beim Menschen, um diese Häkchen zu infizieren und sich mit Fibrin beschichten zu lassen. Es versteht sich, daß man beim Menschen das Versuchsmaterial nicht über Monate im Organismus belassen kann, wie es bei Osteosyntheseteilen der Fall ist. Von diesen Osteosyntheseteilen, die über Monate im Körper verweilen, gibt es Abbildungen, welche eine Fibrinschicht zeigen (15). Wie lange dauert es aber, bis unser Versuchsmetall in einem Entzündungsherd von Fibrin überzogen wird? Ist diese Fibrinschicht mit dem Fibrin auf einer chirurgischen Platte vergleichbar? Traditionelle Nachweisverfahren für Fibrin sind nicht anwendbar, da Metall lichtundurchlässig ist und die geringe Stärke dieser Schicht es nicht gestattet, sie durch Abkratzen auf einen Objektträger zu übertragen.

b) Methodik :

Um das Fibrin nachzuweisen, werden fluoreszenzmarkierte Antikörper benutzt. Es wird nach der direkten Methode vorgegangen, bei der man das Antigen A unmittelbar mit markiertem Anti-A-Serum behandelt. Es bildet sich dabei ein Antigen-Antikörper-Komplex, der fluoresziert, d.h. die kurzwellige, unsichtbare Lichtstrahlung absorbiert und langwellige, sichtbare unter Freisetzung von Energie emittiert. Die übliche Methode, das Fibrin im durchleuchtenden Strahlengang nachzuweisen, kann aus oben erwähnten Gründen nicht angewandt werden. Deshalb wird versucht, die gleiche Wirkung durch seitliche Beleuchtung des Objektes zu erzielen. Als Präparate werden gewöhnliche Nagelfeilen aus Metall verwendet, die zuvor 24 Stunden in einem Osteomyelitis-herd lagen. Als Vergleichsmaterial dient Osteosynthesematerial, eine T-Platte, die unmittelbar zuvor von einem Tibiakopf entfernt wurde. Die raue Nagelfeile hat sicherlich gegenüber der glatt polierten chirurgischen Platte den Vorteil, daß das Fibrin bei der Entnahme und Färbung besser haftet.

Färbung:

1. Nach der Entnahme der Metallteile in Pufferlösung nach COONS (A) säubern und mit einer Spritzflasche abspülen.
2. 30 Minuten in Alkohol (B) fixieren.
3. Erneutes Waschen in Pufferlösung (A).
4. Trocknen mit Fließpapier.
5. Überschichten mit markiertem Antikörper (C,D), dessen optimale Verdünnung in Vorversuchen zu ermitteln ist.
6. Inkubieren in feuchter Kammer für 60 Minuten bei einer Temperatur von 37°C.

7. Wiederholtes Waschen in Pufferlösung (A).
8. Trocknen mit Fließpapier.

Darstellung der Versuchspräparate:

Abb. 1 : Nagelfeile und Tibiakopfplatte

Die Feile wird mit Kunststoff (G) in drei verschiedene Felder gegliedert, damit die unterschiedlichen Färbungen und Fixierungen auf einem Präparat parallel durchgeführt werden können. Dann wird sie 48 Stunden in einem Osteomyelitisherd inkubiert.

(s. Abb. 1)

Die Tibiaplatte ist 12 Monate im Organismus gewesen. Nach der Entfernung wird Blut und Gewebe gründlich abgespült und danach die Platte in Alkohol fixiert.

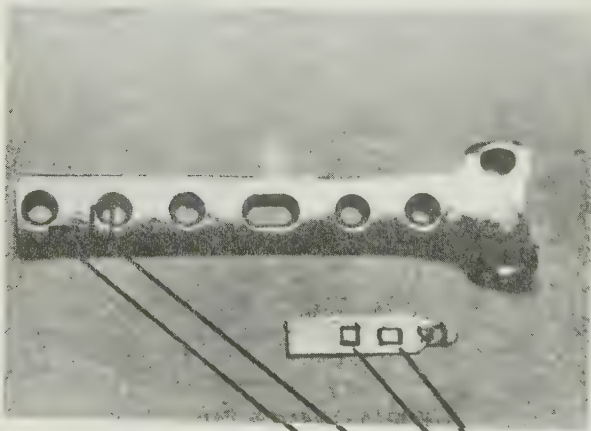


Abb. 1: Die markierten Stellen auf den Präparaten zeigen die Ausschnitte folgender fluoreszenzmikroskopischer Aufnahmen

Abb. 2
Abb. 3
Abb. 4
Abb. 5

c) Ergebnisse :

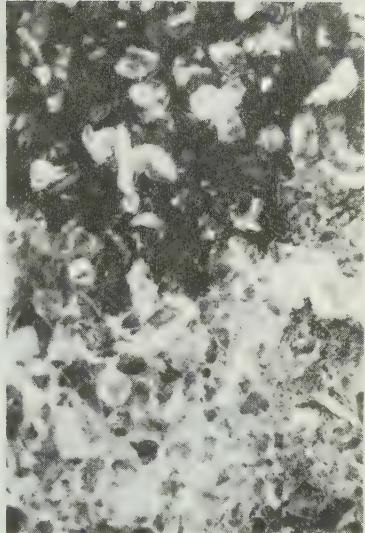
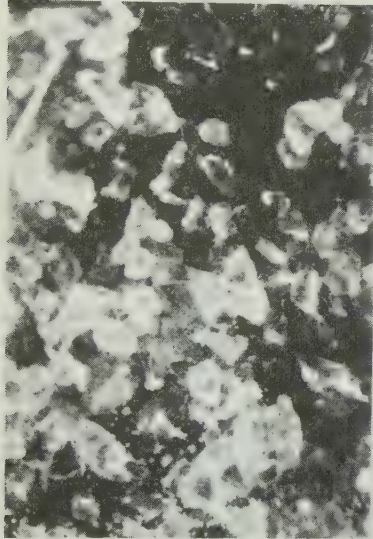


Abb. 2 und 3 : Fibrinbelag auf einer Nagelfeile

Ausschnitt : s. Abb. 1

Inkubation: 48 Stunden in einer offenen Knochen-
trümmerverletzung der Ferse

Färbung: mit fluoreszierendem Anti-Human-Fibrin (C)

Fixierung: Alkohol (B)

Belichtungszeit: 2 Minuten

Vergrößerung: 6,3 x 1,25 x 8 = 60 fach

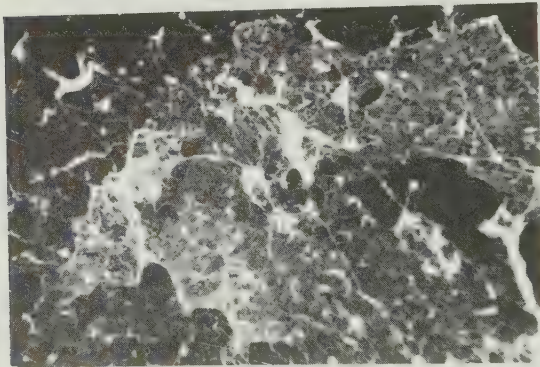
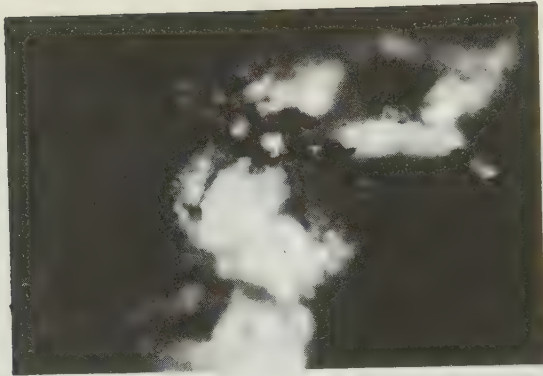


Abb. 4 und 5 : Fibrinbelag auf der chirurgischen Platte

Ausschnitt : s. Abb. 1

Inkubation: 12 Monate auf der menschlichen Tibia

Färbung: mit fluoreszierendem Anti-Human-Fibrin (C)

Fixierung: Alkohol (B)

Belichtungszeit: 2 Minuten

Vergrößerung: 60 fach

Anmerkung:

Bei der chirurgischen Platte ist die Fluoreszenz am stärksten an Stellen, wo die Oberfläche aufgerauht ist. So z.B. verursacht durch die Schrauben in den Bohrlöchern (s.Abb. 4).

Es ist möglich, daß dort, wo die Oberfläche besonders glatt ist, ein Teil der Fibrinschicht bei der Plattenentfernung im Gewebe bleibt oder bei der Fixierung weggespült wird (s. Abb. 5).

Sowohl die chirurgische Platte, als auch die Nagelfeile, zeigen deutlich die charakteristische gelbgrüne Fluoreszenz. Auch durch Trocknung fixierte Präparate ergeben das gleiche Bild (s. Abb. 8), allerdings nicht so ausgeprägt und scharf begrenzt. Mit Sicherheit kann man aber erst nach folgenden Spezifitätsproben behaupten, daß es sich bei dem leuchtenden Material um einen fluoreszierenden Fibrin-Antikörper-Komplex handelt.

d) Spezifitätsnachweis.

Alle Spezifitätsproben lassen gut erkennen, daß es sich bei dem fluoreszierenden Stoff nur um Fibrin handeln kann. In Probe 1 wird lediglich das Metall mit fluoreszierendem Anti-Human-Fibrin (C) behandelt. Das Bild bleibt schwarz und zeigt, daß keine Autofluoreszenz des Metalls vorliegen kann. In Probe 2 wird Metall mit Serum beschichtet und anschließend gefärbt. Auch hier sieht man auf dem Bild, daß im Serum keine Anteile sind, die eine unspezifische Fluoreszenz hervorrufen können. In Probe 3 muß das Bild den Abbildungen 2 und 3 ähneln, die eine Fibrinschicht darstellen, da rekalkifiziertes Plasma gerinnt und das Metall mit Fibrin beschichtet. Die Ähnlichkeit ist offensichtlich. In Probe 4 wird die Färbung mit fluoreszierendem Anti-Human-Albumin (D) durchgeführt. Abb. 9 zeigt eine leichte Fluoreszenz, die durch Albuminspuren auf dem Präparat hervorgerufen werden. Sie sind deutlich schwächer ausgeprägt als das für

Fibrin charakteristische Leuchten in Abb. 2, obwohl es sich um verschiedene Färbungen auf dem gleichen Präparat handelt.

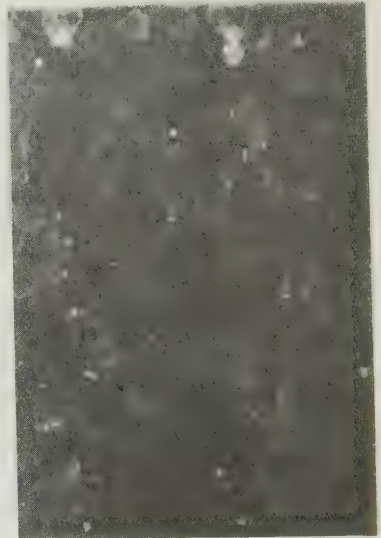
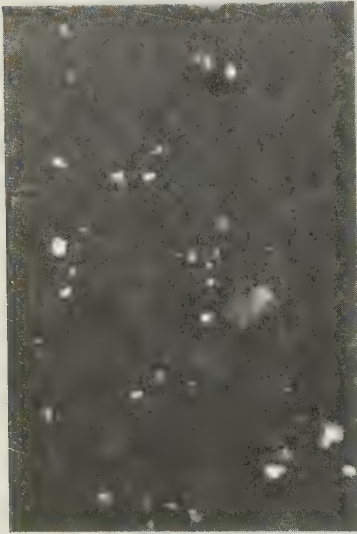


Abb. 6 (Probe 1)

Abb. 7 (Probe 2)

Abb. 6 und 7 : Spezifitätsnachweis mit Hilfe fibrinfreier Präparate. Weder Metall noch Serum zeigen Autofluoreszenz.

Probe 1

Inkubation : ----

Färbung: mit fluoreszierendem Anti-Human-Fibrin

Fixierung: Alkohol

Belichtungszeit: 2 Minuten

Vergrößerung: 60 fach

Probe 2

10 Stunden in Human-Serum

mit fluoreszierendem Anti-Human-Fibrin

Alkohol

5 Minuten

60 fach

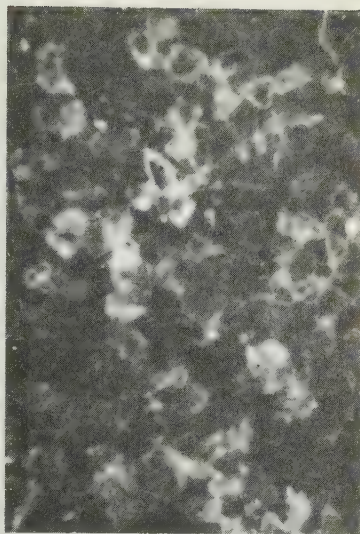
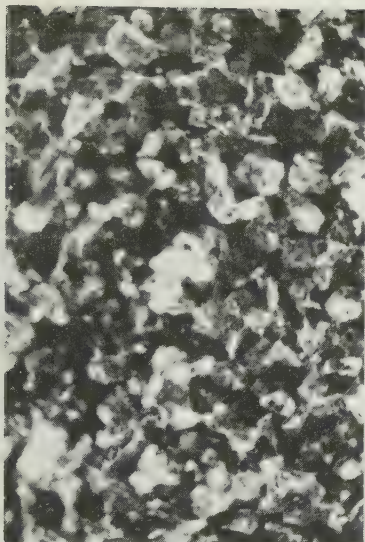


Abb. 8 (Probe 3)

Abb. 9 (Probe 4)

Abb. 8 und 9 : Spezifitätsnachweis mit Hilfe rekalkifiziertem Plasma und fluoreszierender Anti-Human-Albumin Färbung

Probe 3

Inkubation: 10 Stunden in rekalkifiziertem Plasma

Fixierung: Durch Trocknen in der Luft

Färbung: mit fluoreszierendem Anti-Human-Fibrin

Belichtungszeit: 2 Minuten

Vergrößerung: 60 fach

Probe 4

48 Stunden in menschlicher Osteomyelitisfistel

Alkohol

mit fluoreszierendem Anti-Human-Albumin

2 Minuten

60 fach

Einen weiteren guten Nachweis für die Spezifität der Färbung erbringt das sehr spezifisch auf Fibrin wirkende Fibrinolytikum Streptokinase (E).

3.2 Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis der Strepto- ----- kinasewirkung -----

Die Versuchsdurchführung geht davon aus, daß die Fibrinschicht durch Streptokinase (E) beseitigt wird. Die fibrinolytische Streptokinasewirkung kann man gut fluoreszenzmikroskopisch nachweisen. Man nimmt dazu wieder eine Nagelfeile, die in zwei Felder eingeteilt ist, überzieht sie in rekalkifiziertem Plasma mit Fibrin (s.S. 9 und 11, Probe 3) und behandelt danach ein Feld mit dem Fibrinolytikum Streptokinase (E). Nach der Färbung (s.S. 5) sehen wir deutlich, daß in dem mit Fibrinolytikum behandeltem Feld die Fluoreszenz erlischt.

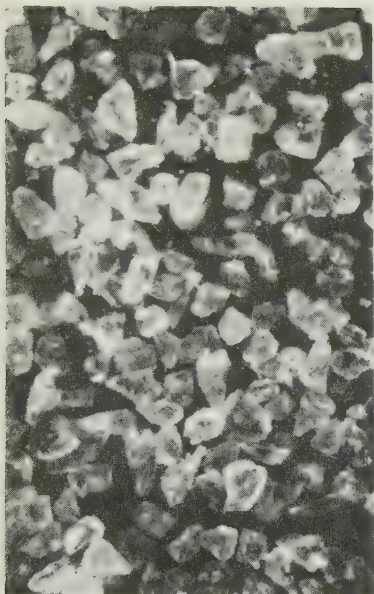


Abb. 10 und 11: Demonstration der Streptasewirkung

Abb. 10

Abb. 11

Inkubation: 2 Stunden in
rekalzifiziertem Plasma

Fibrinolytikum: ---

Streptokinase für 1 1/2 Std.
Konzentration 1 000 I.E./ml

Färbung: fluoreszierendes
Anti-Human-Fibrin (c)

Fixierung: Alkohol (B)

Alkohol (B)

Belichtung: 2 Minuten

2 Minuten

3.3 Bakterienvermehrung auf infiziertem Osteosynthese- ----- und Versuchsmaterial -----

Nachdem gezeigt wurde, daß Metallteile im Organismus schon nach kurzer Zeit Fibrinhüllen besitzen, soll noch ein anderer Vorbehalt ausgeräumt werden. Es ist bekannt, daß einige Schwer- und Edelmetalle eine bakterizide Wirkung besitzen. Legt man z.B. eine Goldmünze in einen Bakterienklon, so bildet sich um die Münze ein Hemmhof, in dem sämtliche Bakterien abgetötet werden. Trifft eine derartige Hemmung auch für die hier verwendeten Versuchsmaterialien zu, so kann die Hypothese nicht stimmen, daß sich in oder unter dem Fibrin, unmittelbar auf dem Metall, vielleicht sogar in den Poren des Materials, Bakterien aufhalten. Die Materialien,

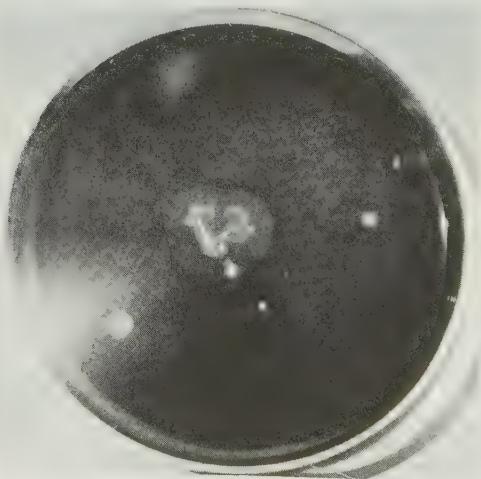


Abb. 12 : Bakterienvermehrung auf infiziertem Metall

die verwendet werden, bestehen aus Legierungen mehrerer Metalle, aber keines der verwendeten Materialien wies eine derartige Bakterizidie auf. Dies läßt sich für jedes verwendete Metall zeigen. Man infiziert es zunächst in einer Wunde, und legt es dann in eine Nährbodenschale. In jedem Fall wird starkes, vom Metall ausgehendes Bakterienwachstum beobachtet.

5.4. Beeinflussung der Antibiotikawirkung durch Streptokinase ? -----

Für das Gelingen des Hauptversuches ist ferner eine Voraussetzung, daß die Streptokinase die Antibiotikawirkung nicht beeinflußt (s.S. 17). Dies wird für unseren speziellen Fall folgendermaßen untersucht: Aus den später verwendeten Antibiotikaverdünnungsreihen (s.S. 17) werden Röhrchen entnommen mit Antibiotikakonzentrationen, die gerade noch die hinzugefügten Erreger hemmen oder eben noch geringstes Wachstum zulassen. Aus diesen Reagenzgläschen pipettiert man genau die Hälfte in andere Röhrchen und gibt hochkonzentrierte Streptokinase (5000 I.E./ml) hinzu. Nach 10 Stunden Reaktionszeit beimpft man mit dem Inhalt jeweils einen Nährboden, bebrütet ihn anschließend bei 37°C und vergleicht dann die entsprechenden Nährböden mit und ohne Streptokinase miteinander. Dabei ist keine Veränderung des Bakterienwachstums zu beobachten. Man kann deshalb davon ausgehen, daß Streptokinase in folgendem Versuch die Antibiotikawirkung nicht beeinflußt.

4. DIE BEEINFLUSSUNG DER ANTIBIOTIKAWIRKUNG DURCH FIBRIN

4.1 Methodik -----

Die gewöhnlichen Osteosynthesematerialien sind nicht bakterizid und besitzen nach ausreichend kurzer Verweildauer im Organismus einen Fibrinbelag. Für eine Untersuchung, ob dieses Fibrin in irgendeiner Art die Antibiotikawirkung beeinflussen kann, sind jetzt die praktischen und experimentellen Voraussetzungen bewiesen.

Bei einer ausgedehnten exogenen Osteomyelitis ist es möglich, mehrere kleine, zuvor sterilisierte Metallteilchen durch eine Hautfistel zum Kerngebiet der Entzündung zu bringen. Für den gleichen Zweck kann auch eine offene infizierte Trümmerfraktur, die tief genug ist, verwendet werden (Abb. 13). In der Wunde wird unser Material infiziert und mit Fibrin überzogen.

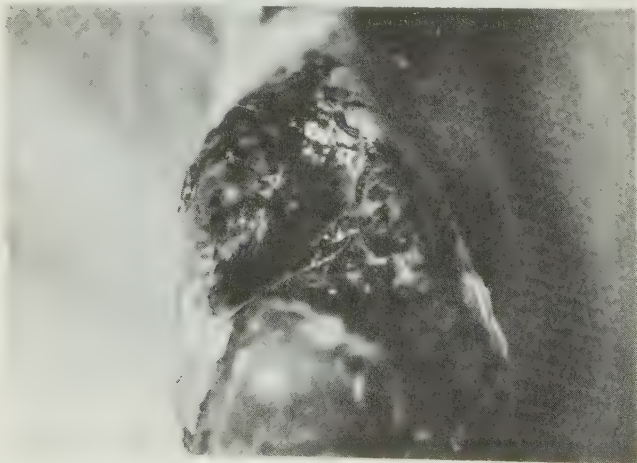


Abb. 13 : Osteosynthesematerial inkubiert in tiefer offener Knochenverletzung der Ferse

Wie oben gezeigt, läuft dieser Vorgang so schnell ab, daß nach 48 Stunden schon mit einer ausreichenden Schicht gerechnet werden kann. Die Metallteilchen sind alle an einem Faden befestigt und können so leicht und steril aus der Wunde entfernt werden.

Zuerst wird eine Antibiotikaverdünnungsreihe bei strenger Sterilhaltung angefertigt. In Reagenzröhrchen wird Antibiotikum mit Plasma derart verdünnt, daß sich elf verschiedene Antibiotikakonzentrationen ergeben, welche sich in der Nähe der zu erwartenden Hemmkonzentration befinden. Die Antibiotikakonzentration, bei welcher die zu testenden Erreger gehemmt werden, sollte möglichst einem mittleren Konzentrationswert der Verdünnungsreihe entsprechen. Der Konzentrationsunterschied zwischen zwei aufeinander folgenden Verdünnungen muß so klein wie möglich sein. Es ist nicht möglich, diese Unterschiede beliebig klein zu wählen, da sich die Hemmkonzentration der Erreger nur ungenau vorhersehen läßt. Es besteht dann die Gefahr, daß die Konzentrationsspanne der Verdünnungsreihe zu klein ist und den zu bestimmenden Wert nicht mehr erfaßt. Danach wird aus jedem Röhrchen die Hälfte des Inhaltes in ein zweites überpipettiert, so daß man jetzt zwei parallele Verdünnungsreihen erhält mit paarweise gleichen Konzentrationen. In die Röhrchen einer der beiden Reihen pipettiert man jeweils hochkonzentrierte Streptokinase-lösung (E) als Fibrinolytikum. Wäre die Streptokinase stark verdünnt, so würde sich nämlich die Konzentration des Antibiotikums wesentlich ändern. Diese geringe Überverdünnung läßt sich vermeiden, indem man beide Verdünnungsreihen getrennt pipettiert und gleich zu Anfang die Streptokinase dem Plasma der einen Reihe zufügt. Dadurch wird die Gefahr aber größer, daß durch geringe Verdünnungsfehler beide Vergleichskonzentrationen (mit und ohne Streptase) unkontrolliert schwanken. Die Streptokinase darf nicht zu früh zu-

gefügt werden, da sie sonst ihre volle Aktivität verloren hat, bis die fibrinüberzogenen Metallteile bereitliegen. Das Verdünnungsmedium muß frisches Plasma sein, denn es enthält die von der Streptokinase benötigten Gerinnungsfaktoren. Ebenfalls muß darauf geachtet werden, daß der Patient während der Inkubationszeit nicht mit Antibiotikum behandelt wird.

In jedes Reagenzglas der Verdünnungsreihe wird ein Metallteilchen gelegt. Anschließend inkubiert man beide Verdünnungsreihen etwa zwölf Stunden bei 37°C im Brutschrank. Wegen der Gerinnungsfaktoren sind wir gezwungen, frisches Plasma als Medium zu nehmen. Da Plasma aber immer unterschiedlich trüb ist, kann man die Bakterienkonzentration nicht photometrisch bestimmen. Deshalb findet man die Hemmkonzentration, indem von jedem Röhrchen einzeln ein Abstrich angefertigt wird, und dieser etwa zwölf Stunden bei 37°C im Brutschrank bleibt. Es ist darauf zu achten, daß bei jeder Beimpfung der Nährböden die gleiche Öse verwendet wird, und das Ausstrichverfahren immer gleich bleibt. Als Zeichen einer Hemmung bilden sich ab einer bestimmten Konzentration auf den Nährböden keine Klons mehr. Um deutliche und einwandfreie Ergebnisse zu erhalten ist es wichtig, daß man beim Pipettieren der Verdünnungsreihe und beim Beimpfen der Nährböden die Flüssigkeiten gut mit Hilfe eines elektrischen Schüttlers mischt. Osteomyelitiden sind häufig Mischinfektionen. Dies hat sich aber bei der Versuchsdurchführung kaum störend bemerkbar gemacht, da beide Erreger getrennt ausgewertet werden konnten. Bei stark schwärmenden Bakterien ist deshalb ein spezieller Nährboden erforderlich, der verhindert, daß ein zweiter Erreger überwuchert wird, und der die Ablesung damit vereinfacht (K). Durch den Vergleich von Hemmkonzentrationen der Verdünnungs-

reihen mit und ohne Fibrinolytikum ist eine Aussage möglich, ob eine Beeinträchtigung der Antibiotikawirkung durch Fibrin vorliegt.

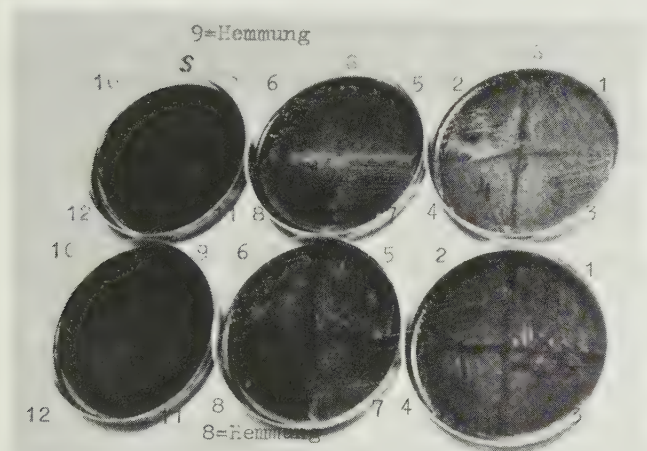


Abb 14 : Bestimmung der Hemmkonzentrationen der Verdünnungsreihen mit und ohne Streptokinase. Die mit Nährboden gefüllten Petrischalen werden in Quadranten aufgeteilt, die man jeweils mit dem Inhalt eines Röhrchens beimpft. Man sieht, wie in den Quadranten mit mittleren Zahlen, d.h. mittleren Antibiotikakonzentrationen das Bakterienwachstum plötzlich sistiert, und man auf folgenden Feldern keine Bakterien mehr nachweisen kann. Diese Werte repräsentieren die Hemmkonzentration. Die mit S gezeichneten Petrischalen wurden aus den Streptokinase enthaltenden Verdünnungsröhrchen beimpft.

4.2 Material

In allen Versuchen findet als Antibiotikum Gentamycin (F) Verwendung. Bei keinem meiner Testpatienten bestehen Resistenzen gegen dieses Mittel. Es ist gut wirksam gegen *Proteus mirabilis* und *Pseudomonas aeruginosa*, Keime, die man sehr häufig als Osteomyelitiserreger antrifft. Leider gibt es noch keine Veröffentlichung über die prozentuale Verteilung von Gentamycin im Knochen.

Als Medium wird in jedem Fall frisches Plasma aus menschlichem Blut benutzt, da es die Gerinnungsfaktoren enthält, die für die Aktivität der Streptokinase erforderlich sind. Bei diesem Medium muß man jedoch darauf achten, daß Gentamycin in vitro an Plasmaproteine gebunden wird, und seine Baktericidie um das Vier- bis Achtfache eingeschränkt wird (16). In diesem Versuch sind nur die Vergleichswerte der Hemmkonzentration wichtig. Deshalb kann man die Ungenauigkeit der absoluten Werte in Kauf nehmen. Diese Ungenauigkeit wird auch durch die verwendeten Klinikampullen hervorgerufen, deren Inhalt niemals so genau bemessen ist, wie in eigens für experimentelle Arbeiten hergestellten Testpräparaten. Die absoluten Hemmkonzentrationen, die unten in der Tabelle angegeben werden, sind also mit diesen Vorbehalten zu betrachten.

Als Fibrinolytikum findet Test-Streptokinase (E) Verwendung, die wesentlich billiger ist, als die stabilisierte Rein-Streptokinase. Das Testpräparat enthält 5000 I.E. in getrockneter Form. Es empfiehlt sich, diese nur mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung aufzulösen, um aus oben erwähntem Grund, die Streptokinase möglichst konzentriert zu erhalten. Als

Osteosynthesematerial wird Cerclagedraht (M) benutzt. Wegen des begrenzten Raumes in der Fistel werden daraus kleine, gleich lange Häkchen aus 10 mm langem Draht geformt (s. Abb. 12 und 13). Diese sind mit Zwirnfden kettenförmig so hintereinander geknotet, daß sie leichter aus der Wunde entfernt werden können. Um die vollständige Entfernung aus der Wunde zu garantieren, sind sie gezählt. Die Häkchen werden zusammen mit dem Knoten, an dem sie hängen, einzeln in die Reagenzgläser gegeben.

Die Antibiotikaverdnnungsreihe besitzt folgende Konzentrationen: (Methodik der Verdnnungsreihenherstellung s. Anhang)

Gefäß Nr.	Konzentration in $\mu\text{g/ml}$
1	0
2	0
3	1
4	2
5	4
6	6
7	8
8	10
9	12
10	14
11	16
12	20

Einen Überblick über den Verlauf des Gesamtversuches ergibt die Tabelle auf folgender Seite.

Übersicht der Versuchsdurchführung:

Versuchs- nummer	Nr. des Pat. (über Art d. Verletzung s. Anhang	Inkuba- tionszeit d. Präpa- rate im Organismus in Std.	Bebrütungs- zeit d. Prä- parate bei 37°C	E r r e g e r	Resistenz gegen Gentamycin
1	1	68	6, 12 24, 48	Proteus mirabilis ³⁾	++ ⁴⁾
2	1	48	12, 48	Escherichia coli	++
3	1	46	12	"	++
4	1	45	12	Proteus mirabilis	++
5	1	46	13	"	++
5a ²⁾	1	46	13	"	++
6	1	46	12	Proteus mirabilis ³⁾	++
6a	1	46	12	Enterokokken	++
7	2	43	11	"	++
8	2	46	12	Pseudomonas aeruginosa	++
9	2	44	12	"	++
10	3	46	12	"	++
11	3	45	11	"	++
12	3	46	12	"	++
13	4	46	12	Proteus mirabilis	++
14	4	46	13	"	++
15	4	46	12	"	++
16	5	46	12	Pseudomonas aeruginosa	++
17	5	45	12	"	++
17a	5	45	12	"	++
18	5	46	12	"	++
18a	5	46	12	"	++

Zu den Anmerkungen 1), 2), 3), 4) siehe folgende Seite.

(1) In den ersten beiden Versuchen sind verschiedene Bebrütungszeiten versucht worden. Die Werte der Hemmkonzentrationen bei den verschiedenen Inkubationszeiten haben sich als gleich erwiesen. Nach zwölf Stunden ist die Ablesegenauigkeit optimal gewesen.

(2) Bei diesen a-Versuchen stammt das Untersuchungsmaterial aus dem vorhergehenden Versuch, wird aber in getrennten Antibiotikaverdünnungsreihen untersucht. Dieses Verfahren gibt einen Anhalt über die Genauigkeit der Untersuchungsmethodik.

(3) Mischinfektion

(4) ++ empfindlich, + schwach empfindlich, - resistent.

4.3 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Versuche werden in Tabellenform gegeben. Dabei wird das Ausmaß des Bakterienwachstums durch Kreuze erläutert:

(++ starkes Wachstum, + Wachstum, - kein Wachstum)

Abkürzungen:

S = Streptokinase, Konz. = Konzentration des Antibiotikums in $\mu\text{g/ml}$, B = Bebrütungszeit in Stunden

In einigen Versuchen sind trotz frühzeitigem Ablesen Schwierigkeiten bei der Bestimmung der Hemmkonzentration aufgetreten, da der Proteus frühzeitig geschwärmt ist, andere Keime überwuchert hat und sich dabei keine deutlich sichtbaren Klons gebildet haben. Deshalb sind in diesen Versuchen neben Blut- und Endo-Agar auch MacConkey Nährböden benutzt worden. Dieser hindert die Proteus Bakterien am Ausschwärmen.

(1) Die mit einem Fragezeichen bezeichneten Werte waren nicht eindeutig zu bestimmen, da der Proteus mirabilis sehr schnell die Klons des Escherichia überwuchert.

Ab dem 2. Versuch werden nur noch Blutagar und MacConkey Agar als Nährböden verwendet.

Versuch Nr. 1 (B = 6)

Konz. in $\mu\text{g/ml}$	Blutagar (H)				Endo-Agar (J)			
	E.coli		Proteus mir.		E.coli		Proteus mir.	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	+	++	++	++	+	++	++	++
6	+	+	++	++	+	++	++	++
8	-? ¹⁾	-?	++	++	-?	-?	++	++
10	-?	-?	++	++	+	+	++	++
12	-?	-?	++	+	-?	-?	++	+
14	-	-	+	+	-	-	++	+
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch-Nr. 1 (B = 12)

Konz. in µg/ml	Blutagar (H)				Endo-Agar (J)			
	E. coli		Proteus mir.		E. coli		Proteus mir.	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++	++
6	+	+	++	++	+	+	++	++
8	-?	-?	++	++	-?	-?	++	++
10			++	++			++	++
12			+	++			+	+
14	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

MacConkey Agar (K)				Peptonagar (I)			
0	++	++	++	++	++	++	++
0	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++
2	++	-	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++
6	+	+	++	++	-?	+	++
8	-	-	++	++		-?	++
10	-	-	++	++			++
12	-	+	++	++			+
14	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-

Versuch (B = 24)

Blutagar				MacConkey Agar			
0	++	++	++	++	++	++	++
0	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++
4	+	-?	++	++	++	++	++
6	-?		++	++	++	++	++
8			++	++	-	-	++
0			++	++	-	-	++
2			+	++	-	-	++
4	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-
0	-	-	-	-	-	-	-

Versuch-Nr. 1 (B = 48)

Antibio- tika- konz.in /ug/ml	Blutagar (H)				MacConkey Agar (K)			
	E.coli		Proteus mir.		E.coli		Proteus mir.	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0 ¹⁾	++	++	++	++	++	++	++	++
1 ¹⁾	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	-?	-?	++	++	++	++	++	++
6			++	++	++	++	++	++
8			++	++	-	-	++	++
10			++	++	+	-	++	++
12			++	++	-	-	++	++
14	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch-Nr. 2 (B = 12)

	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	+	+	++	++	++	++	++	++
6	-?	-?	++	++	++	++	++	++
8			++	++	-	+	++	++
10			++	++	-	-	++	++
12			++	++	-	-	++	++
14	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch-Nr. 2 (B = 48)

	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0 ¹⁾	++	++	++	++	++	++	++	++
1 ¹⁾	++	++	++	++	++	++	++	++
2 ¹⁾	++	+	++	++	++	++	++	++
4	+	+	++	++	++	++	++	++
6	-?	-?	++	++	++	++	++	++
8		+	++	++	+	+	++	++
10			+	++	-	-	++	++
12			++	++	-	-	++	++
14	-	-	+	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch-Nr. 3

		mit S	ohne S		mit S	ohne S
0		++	++		++	++
1		++	++		++	++
2		++	++		+	++
4		++	+		++	++
6	2)	++	+	2)	++	+
8		++	++		++	++
10		++	++		++	++
12		++	++		++	++
14		+	+		+	+
16		-	-		-	-
20		-	-		-	-

(1) Das Plasma in diesen Röhrchen ist geronnen

(2) Nur noch Proteus-Infektion!

Versuch- Antibio- tika- konz.in /ug/ml	Nr. 4				Nr. 5			
	Proteus mirabilis				Proteus mirabilis			
	Blutagar		MacConkey A.		Blutagar		MacConkey A.	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	+	++	++	++	++	++	-	++
6	++	++	++	++	++	++	++	++
8	++	++	++	++	++	++	++	++
10	+	++	+	++	++	++	++	++
12	+	++	+	++	++	++	++	++
14	+	+	+	+	+	+	+	+
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch-Nr. 5a

0	++	++	++	++
0	++	++	++	++
1	++	++	++	++
2	++	++	++	++
4	++	++	++	++
6	++	++	++	++
8	++	++	++	++
10	++	++	++	++
12	++	++	++	++
14	++	+	+	+
16	-	-	-	-
20	-	-	-	-

Versuch-Nr. 6

Antibio- tika- konz.in /ug/ml	Blutagar				MacConkey Agar			
	Proteus mir.		Enterokokken		Proteus mir.		Enterokokken	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	1)	
0	++	++	++	++	++	++		
1	++	++	++	++	++	++		
2	++	++	++	++	++	++		
4	++	++	+	+	++	++		
6	++	++	+	+	++	++		
8	++	++	+	-?	++	++		
0	++	++	-?		++	++		
2	++	++			+	+		
4	+	+	-	-	+	+		
6	-	-	-	-	-	-		
0	-	-	-	-	-	-		

) Die grampositive Enterokokke wächst schlecht auf MacConkey-Agar

Versuch-Nr. 6a

Antibio- tika- konz.in /ug/ml	Blutagar				MacConkey Agar			
	Proteus mir.		Enterokokken		Proteus mir.		Enterokokken	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	(s.S.27 (1))	
1	++	++	++	++	++	++		
2	++	++	++	++	++	++		
4	++	-	++	++	++	++		
6	++	++	+	+	++	++		
8	++	++	-?	-?	++	++		
10	++	++			++	++		
12	++	++			++	++		
14	+	+	-	-	+	+		
16	-	-	-	-	-	-		
20	-	-	-	-	-	-		

Versuch

Nr. 7

Nr. 8

Antibio- tika- konz.in /ug/ml	Pseudomonas aeruginosa				Pseudomonas aeruginosa			
	Blutagar		MacConkey A.		Blutagar		MacConkey A.	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++	++
6	+	+	+	+	+	+	++	+
8	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
12	+	-	+	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch

Nr. 9

Nr. 10

Antibio- tika- konz.in /ug/ml	Pseudomonas aeruginosa				Pseudomonas aeruginosa			
	Blutagar		MacConkey A.		Blutagar		MacConkey A.	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++	++
6	+	+	+	+	++	++	++	++
8	-	-	+	-	+	+	+	+
10	-	-	-	-	+	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	+	+
14	-	-	-	+	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch	Nr. 11				Nr. 12			
	Pseudomonas aeruginosa				Pseudomonas aeruginosa			
	Blutagar		MacConkey A.		Blutagar		MacConkey A.	
Antibiotika-konz.in /ug/ml	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++	++
6	++	++	++	++	++	++	++	++
8	+	++	+	++	++	++	++	++
10	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	-	+	+	+
14	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	+	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
Versuch	Nr. 13				Nr. 14			
	Proteus mirabilis				Proteus mirabilis			
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	+	++	+	++	++	++	++	++
4	+	++	+	++	++	++	++	++
6	++	++	++	++	++	++	++	++
8	++	++	++	++	++	++	++	++
10	++	++	++	++	++	++	++	++
12	+	++	+	++	++	++	++	++
14	-	+	-	++	++	++	++	++
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
Versuch	Nr. 15				Nr. 16			
	Proteus mirabilis				Pseudomonas aeruginosa			
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++	++
6	++	++	++	++	++	++	+	++
8	++	++	++	++	+	+	+	+
10	++	++	++	++	+	+	+	+
12	++	++	++	++	-	-	-	-
14	+	+	+	+	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-
Versuch	Nr. 17				Nr. 17a			
	Pseudomonas aeruginosa				Pseudomonas aeruginosa			
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++	++
6	++	++	++	++	++	++	++	++
8	++	++	++	++	+	+	++	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	+	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Versuch Konz. in /ug/ml	Nr. 18				Nr. 18a			
	Pseudomonas aeruginosa		Pseudomonas aeruginosa		Pseudomonas aeruginosa		Pseudomonas aeruginosa	
	Blutagar		MacConkey A.		Blutagar		MacConkey A.	
	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S	mit S	ohne S
0	++	++	++	++	++	++	++	++
1	++	++	++	++	++	++	++	++
2	++	++	++	++	++	++	++	++
4	++	++	++	++	++	++	++	++
6	++	++	++	++	++	++	++	++
8	++	++	++	+	++	+	++	+
10	++	++	+	+	++	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-

Betrachtet man alle Versuchsergebnisse gemeinsam, so läßt sich kein konstanter, therapeutisch nutzbarer Unterschied in der Hemmkonzentration zwischen den Testreihen mit und ohne Streptokinase feststellen. Dies bedeutet, daß in dem durch unsere Versuchsdurchführung erfaßten Rahmen das Fibrin nicht die Ursache einer Behinderung sein kann.

5. DISKUSSION :

Die chronische posttraumatische Osteomyelitis ist eine sehr therapieresistente Krankheit mit schwerwiegenden, langwierigen Auswirkungen für den Patienten. Daher ist es äußerst notwendig, daß man jeder Möglichkeit nachgeht, die eine Verbesserung der Therapie verspricht. Ein derartiger Anhalt ist die Beobachtung verbesserter Heilungschancen nach Metallentfernung. In vielen Fällen ist diese Entfernung aber nicht möglich, denn eine andere Forderung für die Heilung der Osteomyelitis ist die absolute Ruhigstellung des Knochens im Entzündungs-

herd (17). Auch diese Arbeit kann den Grund für die entzündungsunterhaltende Wirkung des Metalls nicht geben. Die Aussage dieser Arbeit ist, daß das Fibrin, welches das Metall unmittelbar bedeckt, nicht die Ursache einer Behinderung der Antibiotikawirkung sein kann. Damit wird das Spektrum der untersuchungswürdigen Erklärungsmöglichkeiten eingeengt. Es bieten sich aber viele Wege, um weiterzuforschen. Es sollte jetzt untersucht werden, ob durch das Osteosynthesematerial die trophische Versorgung des Knochens im Bereich der Entzündung verschlechtert wird und deswegen nicht genügend Antibiotikum zum Erfolgsort gelangen kann. Vielleicht sind metallotische Erscheinungen für die Unterhaltung der Osteomyelitis verantwortlich. Bleibt ein Fremdkörper wie Metall lange Zeit im Gewebe, so bildet sich um ihn nicht nur die von mir untersuchte dünne Fibrinschicht, sondern je nach Ausmaß der metallotischen Erscheinungen getrennt durch einen schmalen, mit Gewebsflüssigkeit gefüllten Spalt, auch faserreiches, fibrindurchtränktes Granulationsgewebe mit vielen Entzündungszellen, in denen sich Eisen nachweisen läßt (19). Nach ZOLLINGER werden im Rahmen der Entzündungseindämmung besonders die Lymphbahnen durch Fibrin blockiert (18). Man sollte deshalb versuchen, den mit Gewebsflüssigkeit gefüllten Spalt unter dem fibrotischen Gewebe, welches den Entzündungsherd umgibt, auf seinen Bakterien- und Antibiotikumgehalt zu untersuchen. Vielleicht bildet diese wesentlich dickere Bindegewebsschicht zusammen mit den durch Fibrin blockierten Lymphgefäßen, die gesuchte Antibiotikabarriere. Auch Spurenelemente des Metalls könnten den Entzündungsabwehrapparat des Organismus beeinträchtigen (Beeinflussung der Leukozytenchemotaxis? Zerstörung der Leukozyten?). Diese Hypothesen müssen mit anderer Methodik untersucht werden. Zum Bei-

spiel sollte man auch die unterschiedlichen Auswirkungen von Metall und Kunststoff als Osteosynthesematerial auf eine Osteomyelitis erforschen.

Die Tatsache, daß auch diese Arbeit die Therapie der posttraumatischen Osteomyelitis nicht verbessern kann, sollte nicht entmutigen, auf diesem Gebiet weiter zu forschen, denn es gibt, wie oben erwähnt, noch andere Ansatzpunkte, die zum Ziel führen können.

Als wichtiger Nebebefund dieser Arbeit gelang es, mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie auf undurchsichtigen Gegenständen hauchdünne Fibrinschichten nachzuweisen. Diese wurden in wenigen Stunden im Organismus gebildet. Mit dieser Methode läßt sich auch die Streptokinasewirkung auf Fibrin mikroskopisch leicht darstellen. Dieses Verfahren kann sicher noch in vielen anderen Gebieten Anwendung finden.

6. ZUSAMMENFASSUNG :

Ausgangsbeobachtungen: 1) Fast alle posttraumatischen chronischen Osteomyelitiden zeigen trotz Antibiotikatherapie nur wenig Heilungstendenzen. Es ist seit langer Zeit bekannt, daß der Entzündungsvorgang besser auf Antibiotika anzusprechen scheint, nachdem das Osteosynthesematerial entfernt worden ist.

2) Der menschliche Organismus schützt sich vor Fremdkörpern, indem er diese mit einer Fibrinschicht umschließt.

Nebenbeobachtungen: 1) Bei Lungenabszessen werden Therapieerfolge mit dem Fibrinolytikum Streptokinase beobachtet.

2) Typhus-Dauerausscheider sind Gallensteinträger.

In beiden Fällen könnte Fibrin die Barriere zwischen den Entzündungserregern und dem Antibiotikum bilden.

Frage: Beeinträchtigt der Fibrinmantel im Organismus die Heilung der Infektion indem er das Antibiotikum daran hindert, zu seinem Wirkungsort zu gelangen?

Vorversuche: 1) Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis, daß sich schon nach vierundzwanzigstündiger Inkubationszeit in einem Osteomyelitis-herd eine Fibrinschicht um Osteosynthesematerial gebildet hat. Eine gleichartige Schicht haftet besonders auf rauhen Stellen von Metallen, die monatelang im Organismus verweilten.

2) Fluoreszenzmikroskopischer Nachweis, daß Streptokinase diese Fibrinschicht beseitigt.

3) Die verwendeten Osteosynthesematerialien zeigen keine Bakterizidie.

Hauptversuch: Man inkubiert Metallteilchen durch eine Fistel in einem Osteomyelitis-herd. Dort werden sie infiziert und mit einer Fibrinschicht bedeckt. Dann werden in zwei getrennten Röhrchen-Verdünnungstests die Antibiotikakonzentration festgestellt, die notwendig ist, um das Wachstum der Bakterien auf dem infizierten Metall zu hemmen. Eine Verdünnungsreihe enthält das Fibrinolytikum Streptokinase. In dieser Testreihe wirkt das Antibiotikum direkt auf das infizierte Metall ein, da die Fibrinhülle aufgelöst worden ist.

Ergebnis: Die Hemmkonzentrationen der Antibiotika sind in den Testreihen mit und ohne Streptokinase gleich. Die von mir untersuchte Fibrinschicht beeinflußt also die Antibiotikawirkung nicht.

Nebenergebnis: Methode eines fluoreszenzmikroskopischen Fibrinnachweises auf undurchsichtigen Gegenständen und fluoreszenzmikroskopischer Nachweis der Streptokinasewirkung.

7. ZITATE :

- 1) vgl. WILLENEGGER,H.: Klinik und Therapie der pyogenen Knocheninfektion.
Chirurg 41,5 , 215ff (1970)
- 2) vgl. WILLENEGGER,H., M.LEDERMANN: Die operative Therapie der Infektion nach Osteosynthese.
Unfallheilkunde 102, 41 (1970)
- 3) vgl. WILLENEGGER,H., H.G.WAHL, U.PLAAS: Über das Wesen der Spüldrainage.
Internationales Symposium über die posttraumatische Osteomyelitis, Stuttgart.
Schattauer 1970
- 4) WILLENEGGER,H.: Klinik und Therapie der pyogenen Knocheninfektion.
a.a.O. S. 218
- 5) vgl. ECKE v. H.: Behandlungsverfahren bei der chronischen posttraumatischen Osteomyelitis.
Intern. Symposium über die posttraumatische Osteomyelitis, 1969
Bochum, S. 1585
- 6) vgl. ECKE v. H.: Behandlungsverfahren bei der chronischen posttraumatischen Osteomyelitis.
a.a.O. S. 1587
- 7) vgl. SCHUSTER,J.: Metallchirurgische Probleme in der Knochenchirurgie.
Münch. Med. Wschr. 112, 1590 (1970)
- 8) vgl. LÜDINGHAUSEN,v. M., P.MEISTER, J.PROBST: Osteosynthese und Metallose.
Med. Wschr. 21/44, 1913ff (1970)
- 9) ZOLLINGER, H.U.: Pathologische Anatomie,
Stuttgart, Thieme-Verlag 1969,
S. 144
10. ZOLLINGER, H.U.: Pathologische Anatomie.
a.a.O., S. 144

- 11) LÜDINGHAUSEN, v.M., P.MEISTER, J.PROBST:
Osteosynthese und Metallose
a.a.O., S. 1913ff
- 12) MÜLLER,K.-H.; Leiter des Gerinnungsinstitutes der
Universitätskliniken Marburg/Lahn:
Persönliche Mitteilung
- 13) vgl. ZOLLINGER,H.U.: Pathologische Anatomie
a.a.O.
- 14) vgl. MÜNNICH,D., J.LAZAR, L.MODIS: Gallensteine als
Hindernisse für die Heilung von
Typhusbakterienausscheidern.
V. Internationaler Kongress für
Infektionskrankheiten, Wien,
31.8. - 5.9.1970, S. 118
- 15) vgl. LÜDINGHAUSEN, v.M., P.MEISTER, J.PROBST:
Osteosynthese und Metallose.
a.a.O.
- 16) vgl. FALKO,F.G.: Review of bacteriology and pre-
clinical studies and clinical
pharmacology of Gentamicin sulfate,
Therapeutische Umschau 1959
S. 8ff
- 17) vgl. ECKE v. H.: Operative Therapie der chroni-
schen Osteomyelitis.
Münch. Med. Wschr. 112 (1970)
- 18) vgl. ZOLLINGER,H.U.: Pathologische Anatomie
a.a.O. S. 149
- 19) vgl. LÜDINGHAUSEN, v.M., P.MEISTER, J.PROBST:
Osteosynthese und Metallose
a.a.O., S. 1914/15.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BLACK, J., B. CALESNICK, D. WILLIAMS, M. J. WINSTEIN:
Pharmacology of Gentamicin,
A new Broad-Spectrum Antibiotic,
Reprinted from Antimicrobial
Agents and Chemotherapy - 1963,
p. 138-147. Printed in U.S.A.
2. BULGER, R. J., S. SIDELL, W. M. M. KIRBY: Laboratory and
Clinical Studies of Gentamicin
Annals of Internal Medicine,
Vol. 59, No. 5, 1963
3. BURCK, H. C.: Histologische Technik.
Thieme-Verlag Tübingen 1966
4. COONS, A. H.: Histochemistry with labeled
antibody
Intern. Rev. of Cytology
Vol. V. p. 1, 1965
Academic Press, New York
5. ECKE, v. H.: Operative Therapie der chroni-
schen Osteomyelitis
Münch. Med. Wschr. 112 (1970)
6. ECKE, v. H.: Behandlungsverfahren bei der
chronischen posttraumatischen
Osteomyelitis
Intern. Symp. über die posttrau-
matische Osteomyelitis,
Bochum 1969
7. FALKO, F. G.: Review of bacteriology and
preclinical studies and clinical
pharmacology of gentamicin-
sulfate
Therapeutische Umschau 1959
8. HÖFFLER, D.: Klinik und Pharmakologie des
Gentamycin.
Die Berliner Ärztekammer,
Sonderdruck, 6. Jahrgang,
Heft 1/69
9. JUCH, E.: Behandlung der akuten Osteomye-
litis, Untersuchung über den
Penicillinspiegel im Knochenmark
Langenbecks Arch. klin. Chir.
274, 107. (1953)

- 10) KLEIN, J.O., Th.C.EICKHOFF, M.FINLAND: Gentamicin,
The American Journal of the
Medical Sciences, Vo. 248,
Nr. 5, November, 1964.
- 11) KUNZE, H.: Kombinierte lokale und systemati-
sche Osteomyelitis-Therapie
mit Gentamycin.
Münch. Med. Wschr.
Sonderdruck, München 112. Jahrgang,
Nr. 42, 1899-1902
12. LEDERMANN, M.: Prevention and Management of In-
fections in Osteosynthesis
Proc. Amer. Coll. Surg. Meeting
1968, Springer-Verlag 1968
13. LENNERT, K.: Pathologische Anatomie der
Osteomyelitis.
Verh. dtsh. Ges. Orthop.
1964, 26
14. LÜDINGHAUSEN, v.M., P.MEISTER, J.PROBST:
Osteosynthese und Metallose
Med. Welt 21/44 (1970)
15. MÜNNICH, D., J.LAZAR, L.MODIS: Gallensteine als Hin-
dernisse für die Heilung von
Typhusbakterienausscheidern,
V. Internationaler Kongress
für Infektionskrankheiten,
Wien 31.8.-5.9.1970, S. 118
16. POETSCHKE, G.: Grundlagen und Möglichkeiten der
Anwendung fluoreszenz-markierter
Antikörper
Ergebnisse der Laboratoriums-
medizin-Sonderdruck, Band 3,
1965
17. POETSCHKE, G.: Fluoreszenz-markierte Antikörper
in Forschung und Diagnostik.
Das ärztliche Laboratorium,
Sonderdruck, Dezember 1964,
Heft 12
18. REPLOH, H.: Die Osteomyelitis aus der Sicht
des Bakteriologen.
Verh. dtsh. Ges. Orthop.
1964/65

19. RODOLFO L. JAO, G.G.JACKSON: Gentamicin Sulfate,
New Antibiotic Against Gram-
Negative Bacilli
JAMA, Sept. 14, 1964
20. SAUER,G.: Osteomyelitis des Schädeldaches
Breslau 1936
21. SCHUSTER,J.: Metallurgische Probleme in der
Knochenchirurgie
Münch. Med. Wschr. 112 (1970)
22. SCHWAB,M.: Klinik und Pharmakologie des
Gentamycin
Die Berliner Ärztekammer,
6. Jahrg. Heft 1/69
23. UINEZAWA, H.: Progress in Antimicrabial and
Anticancer Chemotherapy,
Proceedings of the 6th Interna-
tional Congress of Chemotherapy,
Tokio 10.-15.8.1969
24. VOORHOEVE,A.: Behandlungsergebnisse mit Refo-
bacin (Gentamycin) bei der
Osteomyelitis
Therapiewoche 18, 16,701 (1968)
25. WACHSMUTH,W., H.HÖHNER: Der Wandel im Krankheits-
bild und Therapie der akuten
hämatogenen Osteomyelitis
Langenbecks Arch. klin. Chir.
320 (1968)
26. WALLER / HEILMEYER : Antibiotika-Fibel, Antibiotika
und Chemotherapie, Stuttgart,
3. Auflage
27. WILLENEGGER,H.: Klinik und Therapie der pyogenen
Knocheninfektion
Chirurg 41, 5 (1970)
28. WILLENEGGER,H., M.LEDERMANN: Die operative Therapie
der Infektion nach Osteosynthese
Unfallheilkunde 102, 41 (1970)
29. WILLENEGGER,H., H.WAHL,U.PLAAS: Über das Wesen der
Spüldrainage.
Internat. Symp. über die posttrau-
matische Osteomyelitis, Stuttgart,
Schattauer-Verlag 1970
30. ZOLLINGER,H.U.: Pathologische Anatomie, Stuttgart,
Thieme-Verlag 1969

MATERIALIEN UND REAGENZIEN

(A) Pufferlösung pH 7,4 (nach COONS)

Lösung A : NaCl	8,77 g
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	1,78 g
Aqua dest.ad	1000 ml

Lösung B : NaCl	8,77 g
KH ₂ PO ₄	1,36 g
Aqua dest.ad	1000 ml

Etwa 9 Teile A plus 1 Teil B gibt pH 7,4

(B) Alkohol 95 %

(C) Antiserum zu Human Fibrin (072-108) Hyland, Division Travenol

(D) Antiserum zu Human Albumin (072-207) Laboratories, INC

Das Antikörperglobulin der unter C und D genannten Antiseren ist konjugiert mit fluoreszierendem Isothiocyanat (FITC) und gelöst in 5 ml lyophilisiertem Medium. Jeder Ampulle mit 5 ml konjugiertem Globulin ist eine Ampulle mit 5 ml sterilem Salzlösungsmittel beigelegt. Die zum Markieren benutzte Gamma Globulin Fraktion ist vorbereitet worden mit Ammoniumssulfatfraktionierung und Ionenaustauschchromatographie. Nicht gebundenes fluoreszierendes Material wird von dem Konjugat mit Hilfe der Gel-Filtration getrennt. Das Endprodukt wird standardisiert durch den FITC/Protein-Quotienten, Immunelektrophorese, Gel Diffusion und Precipitin Titer. Diese Ergebnisse sind auf Wunsch von der Firma lieferbar. Sie entsprechen der im Oktober 1968 in London festgelegten Standardisierung der Immuno-fluoreszenz.

- (E) Test-Streptokinase (stabilisiert) 5000 I.E./IU,
Behring Werke A.G., Marburg/Lahn
- (F) Gentamycin 'Refobacin^R', Ampulle zu 40 mg in 1 ml.
E. Merck, Darmstadt
- (G) Spezialkleber UHU hart, Fismar
- (H) Blutagar, - Universelles Anzuchtungsmedium
Herstellung durch Zusatz von 5 - 10 Vol%
sterilen defibrinierten Hammelbluts zu dem
sterilisierten und auf 50°C abgekühlten Peptonagar
- (I) Peptonagar, für Anzucht und Stammhaltung
Trypticase (Casein-Digest) 15,0 (g/L)
Phytone (Soya-Pepton) 5,0
NaCl 5,0
Agar 15,0
In 200 ml-Portionen 20 min bei 120°C sterilisieren,
auf 50°C abkühlen, in Petrischalen gießen.
- (J) Endo-Agar (Fuchsin-Laktoseagar)
Elektivmedium für gramnegative Bakterien und
Indikatormedium für Laktosefermentation
Pepton "Witte" 10,0 (g/L)
Na₂HPO₄ 2,0
NaCl 6,0
Hefeextrakt 1,0
Fleischextrakt 3,0
Agar 20,0
NaOH q.s.pH 7,4 - 7,6
Für 15 min bei 120°C sterilisieren, auf 100°C
abkühlen. Hitzeempfindliche Komponente zusetzen:
Lactose 10,0 (g/L)

gesättigte alkohol. Fuchsinlösung (filtriert),
5 ml Natriumsulfatlösung, 10 % Lösung, so viel,
daß der in heißem Zustand gefärbte Nährboden
nach dem Erkalten farblos wird.

(K) MacConkey Agar Lot 004-670, BBL, Division of Bio-
Quest, Cockeysville, Maryland 21030, USA
(Herstellung nach Anweisung)

(L) Tibiakopfplatte der Firma Mathys

Kohlenstoff	0,2 %	
Chrom	17,6 %	entsprechend
Nickel	13,6 %	USA-Norm
Mangan	1,4 %	AISI 316 L
Silizium	0,6 %	
Molybdan	2,7 %	

(M) Cerclagedraht der Firma Aesculap

Kohlenstoff max.	0,05 %
Chrom	17,0 - 18,5 %
Nickel	11,5 - 14,5 %
Mangan max.	2,0 %
Silizium max.	1,0 %
Phosphor max.	0,045 %
Schwefel max.	0,03 %

10. PATIENTEN

- 1) K.E. 17.9.25 K.B. 953/71
Osteomyelitis nach operativer Versorgung einer Schenkelhalsfraktur mittels eines 3-Lamellen-Laschennagels. Fistelöffnung in der Operationsnarbe, Verlauf entlang dem Laschennagel.
- 2) S.A. 13.12.14 K.B. 3073/71
Zustand nach Granatsplitterverletzung des Sternums im Jahr 1944. Seit dieser Zeit Fieber, Schmerzen, mehrmaliges Aufbrechen der alten Verwundung mit eitriger Sekretion. Fisteldarstellung: Mehrere tiefe Gänge entlang dem linken Sternumrand. Dahinter daumenendgliedgroße Höhle.
- 3) K.H. 19.1.50 K.B. 893/71
Zustand nach Verkehrsunfall. Infizierte offene Unterschenkeltrümmerfraktur.
- 4) S.E. 9.11.20 K.B. 1735/71
Zustand nach Unterschenkelbruch. Osteomyelitis nach Küntschernagelung.
- 5) W.N. 24.8.56 K.B. 1611/72
Infizierte offene Trümmerfraktur der Ferse nach einer Handgranatenexplosion. Große Höhle im Tuber calcanei.

11. PIPETTIERSCHEMA

Zeichenerklärung:

Konz. = Konzentration G = Gentamycin
 Amp. = Ampulle P = Plasma vom Menschen
 entspr. = entspricht S = Streptokinase
 GP x = Gentamycin-Plasmagemisch mit der Konzentration wie
 in Röhrchen x

1 Amp. G enthält 40 mg/ml

0,2 G + 9,8 P = 10 GPv

Röhrchen/

1		6	P = 6 P	entspr. Konz. 6 0
2		6	P = 6 P	" " 0
11	0,24	GPv + 11,76	P = 12 GP ₁₁	" " 16 x 10 ⁻⁶ g/ml
7	6	GP ₁₁ + 6	P = 12 GP ₇	" " 8 x "
5	6	GP ₇ + 6	P = 12 GP ₅	" " 4 x "
4	6	GP ₅ + 6	P = 12 GP ₄	" " 2 x "
3	6	GP ₄ + 6	P = 12 GP ₃	" " 1 x "
	6	GP ₃ verwerfen		
12	0,3	GPv + 11,7	P = 12 GP ₁₂	" " 20 x "
8	6	GP ₁₂ + 6	P = 12 GP ₈	" " 10 x "
	6	GP ₈ verwerfen		
9	0,18	GPv + 11,82	P = 12 GP ₉	" " 12 x "
6	6	GP ₉ + 6	P = 12 GP ₆	" " 6 x "
	6	GP ₆ verwerfen		
10	0,175	GPv + 11,825	P = 12 GP ₁₀	" " 14 x "
	6	GP ₁₀ verwerfen.		

In jedem Verdünnungsröhrchen bleiben 6 GP mit den charakteristischen Konzentrationen. Die Hälfte des Inhaltes wird in ein zweites Röhrchen pipettiert und danach möglichst hoch konzentrierte Streptokinase hinzugefügt.

100 Einheiten S / ml Ansatz

Sämtliche Pipettiervolumina in ml !

L e b e n s l a u f .

Ich wurde am 18. April 1948 als Sohn des Dr. Gerhard Sauer und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Scherkamp in Witzenhausen geboren. Bis zu meinem Studienanfang lebte ich in Oberkaufungen bei Kassel, wo mein Vater als ärztlicher Leiter einer Lungenheilstätte tätig war.

Im April 1954 kam ich in Oberkaufungen in die Grundschule. Nach dem vierten Schuljahr wechselte ich zum Kasseler Realgymnasium Herderschule. Mein Schulbesuch in Deutschland war von Juli 1965 bis August 1966 unterbrochen, da ich als Austauschschüler in den U.S.A. war. Dort lebte ich in einer amerikanischen Familie in Westerby R.I. und besuchte die St. Bernards High School in New London, an der ich die Abschlußprüfung bestand. In Deutschland setzte ich meinen Schulbesuch an dem naturwissenschaftlichen Zweig der Goetheschule in Kassel fort, wo ich im Sommer 1967 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Wehrdienst für die Zeit des Studiums zurückgestellt, konnte ich gleich das Medizinstudium in Kiel beginnen. Nach bestandener naturwissenschaftlicher und ärztlicher Vorprüfung blieb ich noch das sechste Semester in Kiel und wechselte dann den Studienplatz nach Marburg a.d.Lahn.

Herrn Priv. Doz. Dr. H. Koch möchte ich für die Überlassung des Themas und die hilfreichen Hinweise und Ratschläge bei der Abfassung der Arbeit sowie für die Übernahme der Vorkorrektur und des Hauptreferates danken.

Ebenfalls danke ich Herrn Prof. Dr. K. Müller, Herrn Priv. Doz. Dr. Mannheim und Herrn Prof. Dr. P. Schmitz-Moormann für Rat und für die gewährten Arbeitsmöglichkeiten.

Arbeitsmaterial wurde mir von der Chirurgischen Universitätsklinik, dem Hygiene-Institut, dem Institut für experimentelle Chirurgie und dem Blutgerinnungslaboratorium gewährt.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren

in Kiel

Bargmann, Bernsmeier, Hallermann, Krisch,
v. Kügelgen, Lennert, Leonard, Löhr, Lüllmann,
Meves, Niesel, Spreter v. Kreudenstein,
Weisbecker, Weiss u.a.

in Marburg

Berendes, Buchholz, Exner, Friedrich, Hess,
Hort, Jacob, Koransky, Linneweh, Martini,
Rodeck, Siegert u.a.

